

como una invitación a reflexionar sobre esta materia ya que la estrecha colaboración entre la Academia y la universidad es la vía más segura para que esta nueva disciplina logre, en nuestro medio, un adecuado desarrollo.

#### REFERENCIAS

1. Guthrie D. Historia de I Medicina. Barcelona: Salvat Editores, S.A. 1953.
2. Feinberg TE, Farah Mj. Behavioral Neurology and Neuropsychology. Nueva York: McGraw-Hill; 1997.
3. Goetz CG. Battle of the titans: Charcot and Brown-Sequard on cerebral localization. Neurology. 2000;54:1840-1847.
4. Eccles JC. Facing Reality. Nueva York-Berlin: Springer-Verlag; 1970.
5. Catecismo de la Iglesia Católica pág. 87. Santa Fe de Bogotá: Librería Juan Pablo II. 1992.
6. Castro-Caldas A, Petersson KM, Reis A, Stone-Elander S, Ingvar M. The illiterate brain learning to read and write during Childhood influences the functional organization of the brain. Brain. 1998;121:1053-1063.
7. Price BH, Adams RD, Coyle JT. Neurology and Psychiatry. Closing the great divide. Neurology. 2000;54:8-14.
8. Kandel ER. A new intellectual framework for psychiatry. Am J Psychiatry. 1998;155:157-469.
9. Brumback RA ¿Es la depresión una enfermedad neurológica? Neurologic Clinics. 1993;11:79-104.
10. Kupfer DJ, Regier DA, Kuhl EA. On the Road to DSM-V and ICD-11. European Archives of Psychiatric and <Clinical Neuroscience. 2008;258(Suppl):2-6. DOI: 10.1007/500406-008 5002-6
11. Alvarado L, Muñoz-Neira C, Orellana G, Slachevsky A. Formación en neuropsiquiatría: ¿Una necesidad de país? Rev Med Chile. 2011;139:406-407.
12. Berrios GE, Markova IS. The concept of neuropsychiatry: A historical overview. J of Psychosomatic Research. 2002;53:629-638.

---

## TRABAJOS ORIGINALES

Gac Méd Caracas 2012;120(3):187-197

# Utilidad de la adenosina deaminasa (ADA), interferón gamma y biopsia pleural para el diagnóstico de tuberculosis pleural

Dras. Liliana Elizabeth Suárez Blandenier\*, Ana Rabucha Dubin \*\*, Maria Fernanda Correa de Adjounian \*\*\*, Claudia B de Suarez \*\*\*\*\*

e-mail: lilianabland@gmail.com

\* Médico Internista. Adjunto al servicio de medicina interna del Hospital General del Este "Dr. Domingo Luciani" el Llanito, Caracas.

\*\* Médico Neumólogo Jefe del servicio de neumonología del Hospital General del Este "Dr. Domingo Luciani" el Llanito, Caracas.

\*\*\* Profesor Asociado. Instituto de Medicina Experimental "Dr. José Gregorio Hernández". Universidad Central de Venezuela.

\*\*\*\*\* Profesor Titular. Facultad de Medicina. UCV. Unidad de Miocardiopatía" Dr. Juan José Puigbó". Cátedra de Cardiología. Facultad de Medicina UCV y Hospital Universitario de Caracas.

**RESUMEN**

*El diagnóstico de la tuberculosis pleural es difícil usando solo los métodos convencionales. El objetivo de este trabajo es demostrar la eficacia de la adenosina deaminasa, interferón gamma y biopsia pleural para el diagnóstico de tuberculosis pleural y si estos biomarcadores podrían obviar la práctica de la biopsia. Se realizó el estudio prospectivo de 52 muestras de líquido pleural y 54 biopsias pleurales de 52 pacientes (M/F:30/22). La edad promedio fue 38,8 ± 20,6 años. Los derrames fueron: tuberculosis pleural, 33 (63,46 %), asociados a infección respiratoria baja, 10 (19,23 %) y 9 neoplásicos (17,30 %). La sensibilidad de interferón gamma, adenosina deaminasa y biopsia fue de: 88,0%, 76,0% y 65,0%, respectivamente y especificidad de: 78,0%, 63,0% y 100,0% respectivamente. Conclusiones: La adenosina deaminasa no es útil aislada como método diagnóstico para la tuberculosis pleural. Se recomienda no obviar el cultivo ni la biopsia pleural y siendo Venezuela un país de alta prevalencia de tuberculosis, hacer de rutina, la medición de interferón gamma y la toracoscopia.*

*Palabras clave: Tuberculosis pleural. Interferón. Adenosina deaminasa. Biopsia pleural*

**SUMMARY**

*The diagnosis of pleural tuberculosis is difficult using only conventional methods. The aim of this paper is to demonstrate the efficacy of the adenosine deaminase Interferon gamma and pleural biopsy for the diagnosis of pleural tuberculosis and if these biomarkers could ignore the practice of the biopsy. The prospective study of 52 samples of pleural fluid and 54 pleural biopsies of 52 patients was conducted. The median age was 38.8 (20.6 years.). Tuberculosis etiology spills were 33 (63.46 %); associated with low respiratory infection 10 (19.23 %) and 9 neoplastic (17.30 %). The sensitivity of Interferon gamma, adenosine deaminase and biopsy was 88.0 %, 76.0 % to 65.0 % respectively and the specificity was 78.0 % and 63.0 % 100.0 % respectively. Conclusions: the adenosine deaminase is not useful only as a diagnostic method for the pleural tuberculosis. It is recommended to not override the cultivation or do the pleural biopsy and being Venezuela as a country of high prevalence of tuberculosis, make routine, the measurement of gamma interferon and the thoracoscopy it is recommended.*

*Keywords: Pleural tuberculosis. Interferon. Adenosine deaminase. Pleural biopsy*

**INTRODUCCIÓN**

En Venezuela, para el año 2010, la tasa de mortalidad debido a tuberculosis era de 28, la prevalencia (incluidos casos de HIV), de 48 y la incidencia de 33 por 100 000 hab. (1).

La tuberculosis pleural (TP) es una de las manifestaciones más comunes de la tuberculosis extrapulmonar y la causa más frecuente de derrame pleural en muchos países. Es la consecuencia de la entrada de un antígeno tuberculoso al espacio pleural, usualmente a través de la ruptura de un foco subpleural, seguido de una reacción local, de hipersensibilidad mediada por linfocitos CD4+. Este proceso puede ocurrir durante el episodio de una tuberculosis (TBC) primaria o reactivada y puede o no involucrar bacilos viables introducidos dentro del espacio pleural. La presencia de antígenos micobacterianos en el espacio pleural provoca una intensa respuesta inmunológica, iniciada por neutrófilos y macrófagos, seguidos de linfocitos T ayudadores (Th) tipo 1, productores de interferón gamma, (IFN gamma) resultando un líquido pleural de tipo exudado linfocítico. Esta reacción celular facilitada por marcadores de superficie y gradientes de citoquinas, se conoce como el fenómeno de Koch.

Los tests convencionales para el diagnóstico de la TP, son: el examen microscópico del líquido y del tejido pleural para evidenciar bacilos ácido-alcohol resistentes (coloración de Zielh-Neelsen), el cultivo para el bacilo de Koch en el líquido, esputo o tejido pleural, y el estudio histopatológico de la biopsia pleural para demostrar la presencia de inflamación granulomatosa con o sin necrosis caseosa. Estas pruebas tienen limitaciones reconocidas para el uso clínico, sin embargo, combinadas siguen siendo el *gold standard* para la evaluación de la eficacia de los nuevos tests.

La baciloscopia o coloración de Zielh-Neelsen (ZN), es positiva en el 5,0 % de los casos de TP debido a que la muestra de líquido pleural es paucibacilar.

El cultivo del líquido pleural también posee baja sensibilidad (24,0 %-58,0 %) y su uso es limitado por el tiempo de espera para obtener el resultado en 8 semanas o más, si el medio de cultivo es sólido.

La biopsia pleural y el cultivo del líquido o tejido, siguen siendo las herramientas diagnósticas más accesibles actualmente, pero aún se obtienen falsos negativos en un 15,0 % a 20,0 % de los casos. Por otra parte, la biopsia pleural es un método invasivo cuyas complicaciones son operador-dependiente, debido a que técnicamente es difícil, particularmente en niños. Debido a las limitaciones de los tests convencionales mencionados, más el tiempo de espera de los resultados del cultivo, se han evaluado nuevos métodos y biomarcadores para el diagnóstico de la TP (2).

Entre estas pruebas diagnósticas están la determinación de la actividad de la adenosina deaminasa (ADA) e interferón gamma (IFN gamma) en el líquido pleural, los cuales son sensibles y específicos marcadores de TP. Para algunos autores, estos métodos, parecen ser más convenientes y eficaces que la biopsia de pleura. Las determinaciones de ADA e IFN gamma en pacientes con derrame pleural, podrían reducir el número de pacientes con indicación para procedimientos invasivos y el número de pacientes a quienes se les inicia tratamiento anti-TBC sin la confirmación del *Mycobacterium tuberculosis* (MT), como agente etiológico del derrame pleural (3).

La ADA es una enzima predominantemente producida por los linfocitos T, la cual cataliza la conversión de adenosina a inosina. Es relativamente sensible y específica para el diagnóstico de la TP y la determinación de sus niveles en el líquido pleural, puede ser útil en esta patología. Sin embargo, los resultados de la ADA deben ser interpretados conjuntamente con los hallazgos clínicos y los tests convencionales (4,5).

Por otra parte, se ha demostrado experimentalmente, en granulomas humanos tuberculosos, la producción de citoquinas, entre ellas, el IFN gamma y su significativa elevación en los derrames pleurales tuberculosos (6). Según algunos investigadores, el IFN gamma en el líquido pleural, es considerado como un marcador útil (7).

Este trabajo tiene como objetivo demostrar la eficacia de la determinación de la ADA, del IFN gamma y de la biopsia pleural para el diagnóstico de TP e igualmente analizar si la realización de los biomarcadores (ADA e Interferón gamma) podrían sustituir u obviar la biopsia pleural, evitándose de esta manera, un método invasivo, el cual pudiera eventualmente presentar mayores complicaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio es de tipo correlacional y de diseño transeccional, de campo, no experimental.

### 1.-Población (Pacientes)

Se analizaron 52 muestras de líquido pleural provenientes de 52 pacientes con derrame pleural, hospitalizados en el servicio de Medicina Interna del Hospital General del Este "Domingo Luciani" en el período comprendido entre abril de 2005 y agosto de 2006. A todos estos pacientes se les practicó biopsia

pleural de acuerdo al juicio clínico del especialista neumonólogo y del internista del servicio de medicina.

### Criterios de inclusión

Se incluyeron todos los pacientes de cualquier edad y género, quienes presentaban derrame pleural sin diagnóstico etiológico y quienes de acuerdo a juicio clínico determinado por especialistas del servicio y neumonólogos, tenían indicación de biopsia pleural. Se elaboró la historia médica completa y se realizó análisis de las radiografías del tórax; evaluación de los exámenes de laboratorio y se consignaron los datos predeterminados en el protocolo diseñado para determinar el valor de sospecha de diagnóstico de tuberculosis pleural en la población estudiada. A los pacientes que lo ameritaban, según el juicio clínico, se les realizó fibrobroncoscopia o tomografía axial computarizada de tórax.

### Aspecto ético

A cada paciente, previo consentimiento informado, se le llenó un formato de recolección con los datos pertinentes a la investigación y de su historia clínica.

### Valor de sospecha clínica

Este protocolo definió como de alto valor de sospecha clínica, a los pacientes que presentaron los siguientes parámetros: antecedente epidemiológico definido por el contacto con enfermos con tuberculosis; más de 3 criterios clínicos (dolor pleurítico, tos, disnea, fiebre, pérdida de peso y sudoración nocturna) así como un hallazgo paraclínico positivo como: velocidad de sedimentación globular elevada (30 mm) o trombocitosis (plaquetas > de 450 000 mm<sup>3</sup>). Los pacientes que no cumplieron con estos criterios, se clasificaron como de bajo valor de sospecha clínica.

## 2. Procedimientos

**Generales:** a cada paciente se realizó hematología completa, química sanguínea, deshidrogenasa láctica y proteínas totales y fraccionadas.

**Materiales:** se extrajo 10 mL de líquido pleural de cada paciente por toracocentesis y se realizaron biopsias pleurales a los pacientes que lo ameritaban según el juicio clínico. En los casos en los cuales el paciente presentó expectoración, se realizó tinción de ZN en esputo.

El material se dividió en dos grupos: A. Líquidos pleurales y B. Biopsias pleurales.

### A. Líquidos pleurales.

Los líquidos pleurales fueron clasificados en exudados o trasudados según los criterios de Light (8) y todos fueron analizados según los siguientes

métodos: citoquímico y citomorfológico; citología, coloración de ZN para identificar bacilos ácido-alcohol resistentes; cultivo para demostrar MT, hongos y bacterias; determinación de ADA y de IFN gamma.

#### **Medición de interferón gamma. Procedimientos**

Para la medición de IFN gamma en el líquido pleural, se realizó un ensayo de ELISA Standard con el kit kit Quantikine®, human IFN gamma Inmuno Assay, catalogo N° DIF50 de R& D Systems Inc (9-11).

El ensayo consistió en la detección del interferón-gamma presente en la muestra el cual se enlazó a un anticuerpo policlonal inmovilizado a una microplaca de ELISA. Una vez enlazado, se realizaron lavados sucesivos para remover la unión inespecífica y el INF gamma enlazado fue reconocido por un anticuerpo secundario unido a la enzima peroxidasa de rábano (HRP) la cual produjo en presencia de peróxido de hidrógeno, una coloración a partir de la tetrametilbenzidina. Posteriormente, la cantidad de INF gamma presente se cuantificó mediante una curva de calibración realizada a concentraciones conocidas de IFN gamma.

#### **Medición de la adenosina deaminasa. Procedimientos**

La actividad de la ADA, se determinó por el método colorimétrico de Giusti-Galanti, con la modificación de Berthelot (12), cuyo fundamento se basa en la medición indirecta de la formación de amonio producido cuando la ADA actúa en exceso de adenosina (13-15). La actividad se midió en 25 microlitros de líquido pleural, incubados por 15-30 minutos a 37°, en presencia de una solución de adenosina (mM) en buffer de fosfato, pH 7,2. Para la determinación colorimétrica de amonio liberado, se reveló su presencia utilizando nitroprusiato de fenol e hipoclorito en solución alcalina. La absorbancia se midió a 613 nm. Se cuantificó la cantidad de amonio producida al comparar las lecturas con una curva de calibración. Se expresaron las unidades de la actividad enzimática en ug de amonio producido/min.

#### **B. Biopsias pleurales. (Microscopia de luz)**

Los fragmentos de tejido pleural fueron fijados en solución de formalina al 10,0 % y luego incluidos en parafina para su corte en microtomo y tinción de las secciones con coloraciones de rutina, hematoxilina-eosina, tinción de Z-N y de auramina-rodamina para la identificación de bacilos ácido-alcohol resistentes. La observación se realizó con microscopio de luz.

#### **Criterios de diagnóstico de tuberculosis pleural**

Los pacientes se consideraron con diagnóstico de TP: cuando presentaron los siguientes parámetros: bacilo de Koch aislado en el líquido pleural, esputo o biopsia pleural (ZN o cultivo); presencia de granulomas con o sin necrosis caseosa presentes en la biopsia pleural con o sin ZN positivo y respuesta a tratamiento antituberculoso.

#### **RESULTADOS: Generales**

Los 52 pacientes (M/F: 30-69,0 % / 22-42,3 %) presentaron una edad promedio de 38,8 ± 20,6 años. El mayor número de pacientes incluidos en este estudio procedían de la localidad de Petare, municipio Sucre del Distrito Federal. Los pacientes manifestaron tener contacto cercano con tuberculosis en un 15,9 % de los casos y clínicamente predominaron los siguientes síntomas, en orden de frecuencia: tos (88,4 %), disnea (86,5 %), pérdida de peso (78,8 %), dolor pleurítico, fiebre (76,9 %) y sudoración nocturna (28,8 %).

#### **A. Líquidos pleurales**

Los 52 pacientes presentaron derrame pleural unilateral (100,0 %), de tipo exudativo (100,0 %) con predominio linfocítico (92,0 %). Según la naturaleza de los derrames pleurales, estos se clasificaron en: derrames causados por TP (n=33-63,4 %), de los cuales 26 fueron demostrados de forma directa por la presencia del MT (ZN y/o cultivo) y/o indirecta (presencia del granuloma en el estudio histopatológico de la pleura parietal) y en 7 pacientes que respondieron a tratamiento anti TBC. El resto de derrames pleurales fueron: 10 casos relacionados con infección respiratoria baja y 9 derrames pleurales de naturaleza neoplásica demostrada por citología.

#### **Aspecto macroscópico**

El aspecto macroscópico del líquido pleural especialmente dado por su coloración y transparencia, fue variable según su naturaleza. Se observaron de color citrino (n=29); amarillo claro (n=12); francamente hemorrágico (n=5); rojizo opaco (n=3) y parduzco (n=3).

#### **Coloración de Zielh-Neelsen y cultivo de Löwestein-Jensen**

La coloración de ZN resultó negativa en todos los líquidos pleurales y el cultivo del líquido pleural, resulto positivo en 4 pacientes.

#### **Medición de interferón-gamma**

La medición de IFN gamma, resultó 88,0 %

y 78,0 % para la sensibilidad y la especificidad respectivamente con un punto de corte de 370 pg/d. Cuadro 1. Los límites de confianza fueron: 72,6-96,7 para la sensibilidad y 52,4-93,6 para la especificidad.

Cuadro 1. Sensibilidad y especificidad del Interferón gamma (INF gamma)

	TP +	TP -	Todos
INF-gamma +	30	4	34
INF-gamma -	4	14	18
Todos	34	18	52

TP: Tuberculosis pleural.

#### Medición de la adenosina deaminasa (ADA)

La medición de la ADA, con un punto de corte de 200 U/L, resultó 76,0 % para la sensibilidad y 63,0 % para la especificidad. Cuadro 2. Los límites de confianza fueron: 57,7-88,9 para la sensibilidad y 38,4-83,7 para la especificidad.

Cuadro 2. Sensibilidad y especificidad de la adenosina deaminasa

	TP +	TP -	Todos
ADA +	25	7	32
ADA -	8	12	20
Todos	33	19	52

TP: Tuberculosis pleural.

Cuadro 4. Cuadro comparativo que señala la sensibilidad y especificidad de los métodos convencionales, adenosina deaminasa e interferón gamma

	ZN (LP y BX)	Cultivo (LP y BX)	ADA	INF- G	Biopsia pleural
Sensibilidad	0	26	76	88	63,6
Especificidad	0	100	63	78	100

Z-N: Zielh-Neelsen; ADA: Adenosina deaminasa; INF-G: Interferón gamma; LP: Líquido pleural; BX: Biopsia pleural.

#### B. Biopsias pleurales

Se practicaron 54 biopsias en los 52 pacientes estudiados. En dos de ellos se les practicó doble biopsia. En 21 casos, el diagnóstico de TP fue histopatológico, es decir cónsono con tuberculosis tisular. En un paciente, el diagnóstico de tuberculosis se hizo con una biopsia pericárdica y ganglionar. Del grupo de las biopsias que resultaron positivas para la tuberculosis pleural, en cinco casos (24,0 %), el diagnóstico fue corroborado con el cultivo de tejido y líquido pleural positivos para MT, ya que las coloraciones especiales para bacilos ácido-alcohol resistentes (ZN y auramina-rodamina), fueron negativas en todas las biopsias estudiadas. En los 30 casos con biopsias negativas para el diagnóstico de tuberculosis, solo resultaron positivos 4 cultivos (13,3 %); dos de tejido y dos de líquido pleural. El diagnóstico final de los 52 pacientes fue de 26 casos diagnosticados definitivamente como tuberculosis pleural (50,0 %). Tomando en cuenta los criterios establecidos en este trabajo, para el diagnóstico de TP, la sensibilidad de la biopsia pleural fue de 63,6 % (45,1 % a 79,6 con un 95,0 % de confianza) y la especificidad de 100,0 % (81,47 a 100,0 % con un 95,0 % de confianza). Cuadro 3.

En el Cuadro 4 se muestra la comparación de los resultados de los diferentes métodos evaluados en este trabajo.

Cuadro 3. Sensibilidad y especificidad de la biopsia pleural

	TP +	TP -	Todos
Biopsias pleurales +	21	0	21
Biopsias pleurales -	13	18	31
Todos	33	18	52

TP: Tuberculosis pleural.

## DISCUSIÓN

El diagnóstico definitivo de la TP como lo hemos expresado anteriormente, depende de la demostración del MT en el esputo, líquido o biopsia de pleura.

Según Porcel, la coloración de ZN detecta bacilos ácido-alcohol resistentes, solo en el 5,0 % de los LP y en relación con las biopsias pleurales, encontró que el ZN y el cultivo fueron positivos en un 26,0 % y 56,0 % respectivamente. Obtuvo un 36,6 % de cultivos positivos en LP con el cultivo de Löwestein-Jensen y demostró que la biopsia pleural realizada por médicos especialistas, presenta granulomas, sin o con caseosis, en aproximadamente un 80,0 % de los casos. Opina que si el tejido se cultiva, este porcentaje se eleva a 90,0 %. Destacó que el uso de los medios de cultivo BACTEC proporciona mayor producción del MT y resultados más rápidos que los métodos convencionales, reduciendo de esta manera, el tiempo de detección del MT tanto en el LP como en la biopsia pleural en un 50,0 % (Comparado son 13 días vs 4 semanas en el convencional) (16).

Lamentablemente, el medio de cultivo BACTEC, no es de uso generalizado ni es de fácil acceso en algunos centros hospitalarios de nuestro país. En nuestro trabajo, la coloración de ZN resultó negativa en todos los líquidos y tejido pleural y el cultivo de Löwestein-Jensen, resultó positivo solo en 4 pacientes (8,0 %). El cultivo del tejido resultó positivo en 6 pacientes (11,0 %). Llama la atención que estos resultados son considerablemente más bajos que los reportados en la literatura y en un trabajo nuestro previo hicimos las consideraciones al respecto (17).

La ADA es una enzima polimórfica del catabolismo de las purinas que cataliza la desaminación de adenosina y 2'-deoxyadenosina para producir inosina y 2'-deoxy-inosina respectivamente, liberándose amonio en el proceso. Esta enzima está ampliamente distribuida en el organismo, encontrándose su actividad en prácticamente todos los tejidos, especialmente en las células linfoides, siendo más elevada en las células T que en las células B (18).

En un metanálisis reciente, se analizaron 25 estudios desde 1987 a 2005 acerca de la utilidad de la ADA. Los valores de sensibilidad variaron de 68,8 a 100,0 % con una media de 91,8 % (95,0 % .CI: 89,8-93,6 %) y la especificidad varió de 75,8 a 96,9 % con una media de 88,4 % (95,0 % .CI: 86,0-90,5 %). Los autores consideraron que esta prueba diagnóstica podría disminuir el intervalo entre la instalación de los síntomas y la indicación del tratamiento anti-

TBC, así como bajar los costos de la hospitalización y evitar los métodos invasivos, los cuales podrían en un momento dado, ser inapropiados. Concluyeron que estas recomendaciones eran esenciales para el sistema de salud pública, donde es importante ahorrar recursos y sobre todo, cuando existe un aumento de pacientes que requieren tratamiento (19).

En nuestro trabajo, para la determinación de la ADA en el líquido pleural, con un punto de corte de 200 U/L, obtuvimos un 76,0 % y 63,0 % de sensibilidad y especificidad respectivamente. Consideramos que este punto de corte es elevado para la ADA. Opinamos que el conservativo en el cual se colocó la muestra del líquido pleural, (glicerol y etilen glicol) propuesto por Miller y col., almacenado a 20 °C, podría haber influenciado en el resultado del punto de corte (20).

Antoanangelo y col., también demostraron que transportar el líquido pleural con EDTA y almacenarlo en refrigerador a (-20 °C) o nevera a (4 °C) mantiene estable los niveles de ADA hasta por más de 28 días, sin diferencias significativas con aquellas muestras enviadas con EDTA y procesadas durante la primera hora de recolección (21).

Nos llama la atención, que numerosos trabajos, entre ellos uno venezolano, no señalan en la metodología, con claridad, los procedimientos y medios utilizados para el transporte de las muestras de líquido pleural, como son el uso de conservativos y refrigeración, etc. Obviamente, estos factores podrían alterar el punto de corte así como la sensibilidad y especificidad de la ADA (22,27).

A su vez, existe discordancia en los valores que recomiendan algunos autores como criterio de positividad de ADA en líquido pleural en relación al punto de corte para diagnosticar TP. La mayoría de los investigadores proponen valores que varían entre 10 y 100 U/L. Rojas y col. en Perú, obtuvieron el punto de corte de 95 U/L, habiendo utilizado EDTA al 5,0 % para la conservación de la ADA en el líquido pleural. Estos autores señalaron que es importante la determinación de los puntos de corte para cada laboratorio (28).

En otro trabajo, realizado en una región de baja incidencia para TBC, los investigadores, obtuvieron con un punto de corte de 95 U/L, una sensibilidad de 69,2 % y una especificidad de 79,6 %. Encontraron que la media de los niveles de ADA en los pacientes menores de 35 años, fue significativamente más alta que la encontrada en los mayores de esa edad. Concluyeron que para la determinación de los niveles de ADA deben ser tomados en cuenta la edad y la

incidencia de TBC de cada región con la finalidad de hacer un diagnóstico de TP más preciso (29).

Por otra parte, Light considera que es imposible establecer un valor de corte total y absoluto, ya que tanto las unidades como los métodos de medición difieren de estudio en estudio (30).

La mayoría de los estudios publicados acerca de la utilidad de la ADA, sugieren que cada región debe tener su propio punto de corte para el diagnóstico de TP, con su sensibilidad y especificidad determinada. Zaric y col., encontraron que la sensibilidad de la ADA para el diagnóstico de TP fue de 89,0 %, pero su especificidad fue solo de 70,4 %. La razón de esta discrepancia entre la sensibilidad y especificidad, la atribuyen a los diferentes métodos para medir la actividad de la ADA. Según estos autores, solo un metanálisis extenso y de larga escala, confirmaría la verdadera efectividad de este test para el diagnóstico de la TP. Opinan que es necesario realizar siempre los exámenes convencionales como, el cultivo para MT y estudios de sensibilidad, sobre todo en regiones de intermedia a alta prevalencia de TBC. Consideran al ADA como un test útil para el diagnóstico de TP, pero no como alternativa de la biopsia ni del cultivo. El cultivo tanto del líquido como del tejido, constituye una herramienta muy importante y necesaria, sobre todo en esta era del MT resistente al tratamiento (MDR tuberculosis). La ADA sería ella sola, utilizada como un primer paso de confirmación de la TP, para luego ser practicados los métodos invasivos.<sup>31</sup>

Es preciso mencionar, que en nuestro país, aún no ha sido determinado un punto de corte ni se ha estandarizado la metodología para la determinación de los niveles de ADA en el líquido pleural.

En el presente trabajo, se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad que si bien se encuentran dentro del rango de los reportados en la literatura, no reflejan la eficacia de la ADA. Muchos autores, como nos referimos anteriormente, consideran que las diferencias de los valores obtenidos en los diversos trabajos, se deben en gran parte a la metodología empleada por cada investigador y a los diferentes puntos de corte, a pesar de que el método más empleado es el de Giusti.<sup>12</sup> Sería entonces a considerar y a investigar, si los reactivos usados son elaborados por la misma casa de productos o en el laboratorio mismo, etc.

Es importante destacar también, que en un estudio reciente, en el cual se analizó un trabajo de metanálisis para determinar la eficacia de la ADA como método diagnóstico para la TP, los autores demostraron

elementos interesantes a tomar en cuenta en la eficacia de la determinación de este biomarcador. En los 63 estudios revisados, la ADA se realizó con el método Giusti en 42 trabajos, con otro método en 17 y en 4 estudios, los autores no reportaron el método utilizado. Los autores indicaron que no se señaló el tipo de pacientes seleccionados ni criterios de inclusión y exclusión claros y se utilizaron distintos métodos de medición del ADA en líquido pleural y diferentes puntos de cortes. De tal manera que no se definieron los métodos de diagnóstico, ni el diseño del estudio, así como los diferentes puntos de corte y patrones de referencia. (Esto último produce también sesgo de verificación). Según estos autores, se introdujo un alto riesgo de sesgo, porque la base de datos utilizada solo incluyó estudios en inglés y no se buscó en la "literatura gris", (revistas no indexadas), siendo que la mayor prevalencia de TBC ocurre en países en vías de desarrollo, donde el idioma inglés no es oficial. Los autores recomiendan que sus resultados se deban interpretar con extrema cautela (32).

En un trabajo reciente en Perú, se analizaron estudios para la eficacia de la ADA, desde 1978 hasta 2010, encontrando diferencias en el tipo de muestra a estudiar según las regiones con epidemiología y criterios diferentes para el *gold standard* así como metodologías distintas para la determinación de la ADA. Los autores de este análisis, recomendaron realizar trabajos en cada región para establecer su verdadera utilidad. Por otra parte, en países en vías de desarrollo o de industrialización, los centros asistenciales no cuentan siempre con personal entrenado ni con los equipos necesarios para la realización de la biopsia pleural; y la mayoría de los pacientes no tienen los recursos económicos para realizar este procedimiento. Esto conduce en la mayoría de los casos, a administrar la terapéutica, basados en el pretest del paciente, según las características citoquímicas-citomorfológicas del líquido pleural y los resultados de la ADA. Por estas razones, algunos autores, consideran la ADA, como método suficiente, debido a su alta eficacia para el diagnóstico de TP, evitándose de esta manera el uso de la biopsia pleural, especialmente en regiones con una prevalencia alta de tuberculosis (33).

Laniado-Laborin, sugiere que para la interpretación de los resultados de la ADA, el clínico debe ser consciente de los diferentes niveles de corte que se pueden dar según los métodos de análisis utilizados y recomienda que un nivel elevado de ADA no debe ser considerado como un equivalente de la presencia

del MT en el líquido pleural y en las muestras de biopsia pleural (34).

Una de las críticas que muchos investigadores hacen a la ADA, es el hecho que al determinarla aislada como método diagnóstico, no se realiza el cultivo para el MT, y por lo tanto, no se hacen las pruebas de sensibilidad ni se tipifican las cepas de *mycobacterium*. Para Light, el cultivo del líquido pleural, es positivo en el 35,0 % y el tejido pleural, de 55,0 %, por lo que, el cultivo del tejido solo añade un 20,0 % más de positividad, razón por la cual se le restaría importancia al cultivo del líquido pleural. Según este autor, la demostración de niveles elevados de ADA o de IFN gamma en el LP, establece el diagnóstico de TP por sí solos (30).

Recientemente, de todas las citoquinas investigadas en este campo, el IFN gamma ha sido la más estudiada. Su utilidad y eficacia para el diagnóstico de la TP, ha sido bien demostrado en varios estudios (35,36).

En 22 trabajos, los cuales incluyeron 782 pacientes con TP y 1 319 controles sin TP, la sensibilidad estimada para el IFN gamma fue del 89,0 % (95,0 %. CI 87,0-91,0 %) con una especificidad de 97,0 % (96,0 %-98,0 %). Según los autores de este análisis, el IFN gamma fue la citoquina más sensible y específica para el diagnóstico de TP comparado con IL-12p40, IL-18, el receptor soluble de IL-2, determinados en las mismas muestras (37). Otro estudio demostró que la eficacia del IFN gamma fue superior a la del ADA (38).

En nuestro trabajo, los niveles de IFN-gamma en el líquido pleural, con un punto de corte de 370 pg/dL, resultó del 88,0 % y 78,0 % para la sensibilidad y la especificidad respectivamente, lo cual coincide con los resultados reportados en la literatura, y se concluye, que es un método eficaz para el diagnóstico de la TP.

A pesar de estos resultados, el uso de los métodos indirectos no invasivos para el diagnóstico de TP, descritos anteriormente, de manera aislada o combinada, sigue siendo un punto de controversia y discusión.

La biopsia pleural constituye actualmente para muchos investigadores, un método diagnóstico útil, pudiendo demostrar TP en el 76,0 % de los casos, sobre todo en países en vías de desarrollo, donde muchas veces la toracoscopia y la biopsia dirigida por imagen no son accesibles (39). Para algunos autores, cuando la toracoscopia no está disponible, la citología del líquido y la biopsia pleural pueden proporcionar un diagnóstico certero en un número

significativo de derrames pleurales (40).

En nuestro trabajo, la sensibilidad de la biopsia pleural fue de 63,6 % (45,1 -79,6 % con un 95,0 % de confianza) y la especificidad de 100,0 % (81,47 - 100,0 % con un 95,0 % de confianza). La demostración de granulomas en la biopsia pleural es sugestiva de TP aun sin necrosis caseosa. A pesar de que otras enfermedades (hongos, sarcoidosis, artritis reumatoide) lo pueden presentar, más del 95,0 % con esta histología tienen TP. Según Aggarmal y col, la biopsia inicial revela granulomas en 50,0-97,0 % de los pacientes con derrame pleural y el cultivo de la biopsia es positivo en un 39,0-80,0 % de los casos (41). En nuestro país, la biopsia pleural sigue siendo considerada como un método diagnóstico útil y eficaz (42). Para otros autores, a pesar de que la ADA e IFN gamma, son métodos útiles y rápidos para el diagnóstico de la TP, ellos no reemplazan el cultivo, ni la biopsia pleural (43,44).

Según Roth, la ADA no debería ser utilizada como un método alternativo a la biopsia ni al cultivo, sino como una herramienta para orientar el diagnóstico temprano y el tratamiento. Por ello, se debe enfatizar que la ADA no debe ser utilizada aislada para el diagnóstico de TP (45).

En un estudio en Perú, se demostró con un punto de corte de 88.2 UI/L, que la sensibilidad para la ADA fue de 37,0 % y la especificidad de 96,0 %, con un valor predictivo positivo de 89,0 % y un valor predictivo negativo de 65,0 %. Los autores recomiendan usarla combinada con otros métodos diagnósticos, ya que no demostró ser una prueba óptima para el diagnóstico de TP (46).

En nuestro trabajo, se demostró que la medición de IFN gamma es más eficaz que la de ADA y la biopsia pleural, lo cual coincide con la literatura. La diferencia fundamental entre la medición del IFN gamma y la de ADA, es el costo. Sin embargo, algunos autores opinan que a pesar de esto, debería utilizarse como método diagnóstico de la TP, de rutina en pacientes con alta sospecha de TP (47).

Diacon y col., recomiendan en regiones de alta prevalencia de TBC, la combinación de la ADA, el conteo diferencial de las células en el líquido pleural de tipo exudado y la biopsia, como métodos de alta eficacia en derrames pleurales no diagnosticados, y a su vez, que podría sustituir la realización de la toracoscopia en países de pocos recursos económicos (48).

En otro trabajo, se obtuvo el diagnóstico de TP a

través de la toracoscopia, en 12,0 % de los pacientes que tenían los niveles de ADA en 50 UI/L o menos, o en los que la biopsia pleural percutánea, era inespecífica. Estos autores, sugieren la toracoscopia para la toma de biopsia o la determinación de los niveles de IFN-gamma para proporcionar un diagnóstico definitivo en pacientes con derrame pleural sin diagnóstico (49).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Concluimos como muchos autores, a no tomar en cuenta la medición de la ADA de manera aislada como método diagnóstico para la TP, y por ende, obviar el cultivo y la biopsia pleural. Recomendamos realizar más y extensos trabajos que determinen el punto de corte para la ADA en nuestro país, relacionarlos con las edades de los pacientes y estandarizar los métodos para su medición, incluyendo los materiales, reactivos y procedimientos, así como los medios de conservación para el transporte de las muestras. Se recomienda en Venezuela, región de alta prevalencia de TBC, hacer de rutina la medición de IFN gamma y la toracoscopia.

Agradecimiento: Al Dr. José Avilán Rovira por su colaboración y apoyo sin el cual, este trabajo no se hubiese concluido.

## REFERENCIAS

- Organización Mundial de la Salud. Reporte Global de la TBC. 2010 [actualizada 2010] Disponible en: <http://www.who.int/countries/ven/en/>
- Trajman A, Pai M, Dheda K, Van Zyl Smit R, Zwerling A A, Joshi R, et al. Novel tests for diagnosing tuberculous pleural effusion: What works and what does not?. *Eur Respir J*. 2008;31:1098-1106.
- Krenke R, Safianowska A, Paplinska M, Nasilowski J, Dmowska-sobstyl B, Bogacka-zatorska B, et al. Pleural fluid adenosine deaminase and interferon gamma diagnostic tools in tuberculous pleurisy. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(Suppl 6):349-360.
- Light R. Tuberculous pleural effusions. En: Williams & Wilkins, editores. *Pleural diseases*. 4ª edición. Filadelfia: ed Lippincott; 2001.p.186.
- Shi QL, Wang K, Qin SM, Qin XJ. Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: A meta-analysis. *Respir Med*. 2008;102:744-754.
- Fenhalls G, Wong A, Bezuidenhout J, Van Heden P, Bardin P, Lukey P. In situ production of gamma interferon, interleukin-4, and tumor necrosis factor alpha mRNA in human lung tuberculous granulomas. *Infect Immun*. 2000;68:2827-2836.
- Wongtim S, Silachamroon U, Ruxrungtham K, Udompanich V, Limthongkul S, Charoenlap P, et al. Interferon gamma for diagnosing tuberculous pleural effusions. *Thorax*. 1999;54:921-924.
- Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: The diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972;77:507-513.
- Hua Ch, Liang-Chang L, Chen Y, Chang S. Proinflammatory cytokines and fibrinolytic enzymes in tuberculous and malignant pleural effusions. *Chest*. 1999;116:1292-1296.
- Aoe K, Hiraki A, Murakami T, Eda R, Maeda T, Surgi K. Diagnostic significance of Interferon-gamma in tuberculous pleural effusions. *Chest*. 2003;123:740-744.
- Chen Y, Yang W, Whang-Peng J, Tsai Ch, Perng R. An analysis of cytokine status in the serum and effusions of patients with tuberculous and lung cancer. *Lung Cancer*. 2001;31:25-30.
- Giusti E. Adenosine Deaminase. En: Bergmayer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. 2ª edición. Nueva York: Academic Press Inc; 1974.p.1092-1099.
- Andreasyan N, Hairapetian H, Sargisova Y, Mardanya S, Baldalyan L, Khanoyan A. Activity of adenosine deaminase and its isoforms in pleural fluid in tuberculous pleuritis. *Med Sci Monit*. 2002;8:708-712
- Perez-Rodriguez E, Jimenez D. The use of adenosine deaminase and adenosine deaminase isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulm Med*. 2000;6:259-266.
- Ungerer J, Oosthuizen H, Retief J, Bissbort S. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest*. 1994;106:33-37.
- Porcel J M. Tuberculous pleural effusion. *Lung*. 2009;187:263-270.
- Suárez L, Suárez C, Rabucha A, Villarroel A. La biopsia pleural en pacientes con derrame pleural como el elemento de diagnóstico de tuberculosis: estudio correlativo con cultivo de tejido y líquido pleural. *Gac Méd Caracas*. 2011;119: 297-309
- Pérez-Aguilar MC, Goncalves L, Ibarra A, Bonfante-Cabarcas R. Adenosin deaminasa como molécula coestimuladora y marcador de inmunidad celular. *Invest Clin*. 2010;51:561-571.
- Morisson P, Duprat Neves D. Evaluation of adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis: A Brazilian meta-analysis. *J Bras Pneumol*.

- 2008;34:217-224.
20. Miller K, Barnette R, Light R. Stability of adenosine deaminase during transportation. *Chest*. 2004;126:1933-1937.
  21. Antonangelo L, Vargas FS, Almeida LP, Acencio MM, Gomes FD, Sales RK, et al. Influence of storage time and temperature on pleural fluid adenosine deaminase determination. *Respirol*. 2006;11:488-492.
  22. Ávila J, Montalvo C, Istúriz G, Adjounian H, Kaufman A, Lozada M. Utilidad de la actividad de adenosina deaminasa en el diagnóstico de derrame pleural por tuberculosis. *Rev Fac Med*. 1992;15:15-30.
  23. Coitinho C, San Martín R, Mier C, Rodríguez R, Zunino T S, Rivas C. Utilidad de la dosificación de adenosina deaminasa en el diagnóstico de la tuberculosis pleural. Primera experiencia nacional. *Rev Med Urug*. 2007;23:19-24.
  24. Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, Taljaard JJF. Diagnosis of tuberculous pleuritis ratio: Increased specificity for the deaminase with lymphocyte/neutrophil combined use of pleural adenosine. *Chest*. 1996;109:414-419.
  25. Ogata Y, Aoe K, Hiraki A, Murakami A, Kishino D, Chikamori K. Is adenosine deaminase in pleural fluid a useful marker for differentiating tuberculosis from lung cancer or mesothelioma in Japan, a country with intermediate incidence of tuberculosis? *Act Med Okayama*. 2011;65:259-263.
  26. Verma SK, Dubey AL, Singh PA, Tewerson SL, Sharma D. Adenosine deaminase (ADA) level in tubercular pleural effusion. *Lung India*. 2008;25:109-110.
  27. Valdés L, San José E, Álvarez D, Valle JM. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusions: Diagnostic role and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir J*. 1996;9:747-751.
  28. Rojas B, Yi A, Accinelli R. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis. *Rev Med Hered* 1993; 4: 115-118.
  29. Kapisyzi P, Argjiri D, Aliko A, Beli J, Vakefliu Y, Kore R, Shehu E, et al. The use of different cutoff values of ADA liquid level in diagnosis of tuberculous pleurisy in countries with different incidence of tuberculosis. *Chest* 2011;140:703.
  30. Light RW. Update on tuberculous pleural effusion. *Respirol*. 2010;15:451-458.
  31. Zaric B, Kuruc V, Milovanc A, Markovic M. Differential diagnosis of tuberculous and malignant pleural effusions: What is the role of adenosine deaminase? *Lung*. 2008;186:233-240.
  32. Herrera C, Aravena C. Análisis crítico de un artículo: ¿Es confiable la medición de adenosindeaminasa (ADA) para el diagnóstico de derrame pleural tuberculoso? *Rev Méd Chile*. 2009;137:308-311.
  33. Quiñones-Silva JB, Ramirez-Yepey CH, Peña-Oscuivilca A, Estrada-Choque E. Validez de la prueba de adenosina deaminasa y del recuento diferencial de leucocitos para el diagnóstico de tuberculosis pleural. *Ann Fac Med*. 2010;71:18-22.
  34. Laniado-Laborín R. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. Is it really an ideal test? A word of caution. *Chest*. 2005;127:417-418.
  35. Light R. Update: Management of the difficult to diagnose pleural effusion. *Clin Pulm Med*. 2003;10:39-46.
  36. Ogawa K, Hirakata K, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Differential diagnosis of tuberculous pleurisy by measurement of cytokine concentrations in pleural effusion. *Tuber Lung Dis*. 1997;78:29-34.
  37. Greco S, Girardi E, Masciangelo R, Capocetta GB, Saltini C. Adenosine deaminase and interferon- $\gamma$  measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: A metaanalysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7:777-786.
  38. Jiang J, Shi HZ, Liang QL, Qin SM, Qin XJ. Diagnostic value of interferon- $\gamma$  in tuberculous pleurisy: A metaanalysis. *Chest*. 2007;131:1133-1141.
  39. Hira HS, Ranjan R. Role of percutaneous closed needle pleural biopsy among patients of undiagnosed exudative pleural effusions. *Lung India*. 2011;28(2):101-104.
  40. Pandit S, Chaudhuri A D, Saikat S B, Pulakesh A D. Role of pleural biopsy in etiologic diagnosis of pleural effusion. *Lung India*. 2010;27:202-204.
  41. Aggarmal AN, Gupta D, Lindal S K. Diagnosis of tuberculous effusion. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 1999;41:89-100.
  42. Fuentes Z, Garrido L. Tuberculosis pleural: Estudio epidemiológico, clínico y radiológico de 109 casos. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2000;20:108-112.
  43. Lazarus AA, McKay S, Russell G. Pleural Tuberculosis. *Dis Mon*. 2007;53:16-21.
  44. Villegas M, Labrada L, Saravia N. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase, and interferon- $\gamma$  in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest*. 2000;118:1355-1364.
  45. Roth B J. Searching for tuberculosis in the pleural space. *Chest*. 1999;116:13-5.
  46. Ortiz JM. El valor diagnóstico del test de ADA. Tesis

de especialización. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Peru. 2002.

47. Hiraki A, Aoe K, Eda R, Maeda T, Murakami T, Sugi K, Tafeyama H. Comparison of six biological markers for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest*. 2004;125:987-989.
48. Diacon A H, Van de Wal BW, Wyser C, Smedema JP,

Bezuidenhout J, Bolliger CT, et al. Diagnostic tools in tuberculous pleurisy: A direct comparative study. *Eur Respir J*. 2003;22:589-591.

49. Sakuraba M, Masuda K, Hebisawa A, Sagara Y, Komatsu H. Pleural effusion adenosine deaminase (ADA) level and occult tuberculous pleurisy. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2009;15:294-296.

---

Gac Méd Caracas 2012;120(3):197-212

## Identificación de células madres hematopoyéticas fetales y de adultos. Mitos y realidades de los trasplantes

Drs. Aixa Müller de Soyano <sup>(1,2)</sup>, Andrés Soyano <sup>(3)</sup>

e-mail: amuller@gmail.com

### RESUMEN

*Las células madres hematopoyéticas son células indiferenciadas con una amplia capacidad de proliferación y de autorrenovación; están presentes en médula ósea (1 %-3 %) y en sangre (0,1 %), identificándose por la expresión del marcador CD34. Pueden ser movilizadas desde la médula ósea a la sangre después de quimioterapia o con citoquinas. En este estudio se identificaron células madres en sangre de fetos, neonatos y adultos. Se analizaron 278 muestras de sangre de fetos de 17-32 semanas, neonatos, y en productos de aféresis de células madres de pacientes con enfermedades malignas. La cantidad de células CD34+*

*disminuyó con el aumento de la edad gestacional de 6,10 % a 1,03 %. De estas células se obtuvo la formación de colonias granulocíticas y eritrocíticas en cultivos. En sangre de cordón se obtuvieron 0,86 ± 0,33 % células CD34+. Se analizaron las indicaciones y resultado de trasplantes de médula ósea y de sangre de cordón en diferentes patologías. Hasta ahora no existe indicación médica para el uso de células madres autólogas de sangre de cordón en leucemias infantiles, ni en enfermedades genéticas. En infarto del miocardio no se han obtenido resultados satisfactorios con los protocolos clínicos evaluados, mientras que en daño neurológico, el uso de células madres permanece todavía como una aproximación experimental.*

<sup>(1)</sup> Unidad de Hematología y Oncología, Ministerio de Salud / Universidad Central de Venezuela, Caracas.

<sup>(2)</sup> Banco de Sangre, Clínica El Ávila, Urbanización Altamira, Caracas.

<sup>(3)</sup> Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas.

*Palabras clave: Célula madre hematopoyética. Trasplante de médula ósea. Trasplante de células de cordón. Trasplante de células madres. Aféresis.*